

平成21年 5月19日現在

研究種目：若手研究 (B)
研究期間：2007～2008
課題番号：19790019
研究課題名 (和文) 酵素モデルを用いた環境調和型触媒的アミド化反応の開発
研究課題名 (英文) Catalytic amidation using enzyme model
研究代表者
加藤 信樹 (KATO NOBUKI)
名古屋市立大学・大学院薬学研究科・助教
研究者番号：50400221

研究成果の概要：

環境汚染や地球温暖化が問題となる昨今、これからの化学産業に求められるものは、グリーンケミストリーの理念に則った低環境負荷、高原子効率の化学反応プロセスである。酵素は数十から数百のアミノ酸から構成されるタンパク質で、生体内での化学反応を促進させる非常に優れた触媒であり、その触媒機構は非常に合理的かつ効率的なものである。申請者は、酵素の触媒機構にヒントを得て、二核金属の協働効果と水素結合による基質の活性化をコンセプトに触媒を設計・合成した。中心金属をガドリニウムとした錯体を触媒として安息香酸、ベンジルアミンを用いて、当初目的としていた触媒的アミド化を試みたところ、目的のアミド化は全く進行せず、予想に反してベンジルアミンが酸化されたベンジルイミンが得られた。本酸化反応は、加圧条件や酸素雰囲気条件、空気のバブリングなどといった煩雑な操作を必要とせず、開放系で加熱攪拌するだけという簡便な操作、大気中の酸素を取り込み基質を酸化するというコストパフォーマンス、生成物以外の副生成物、溶媒は水のみという環境調和性という優れた特性を持っている。当初、触媒的アミド化反応の開発を目指して始めた研究であったが、研究の過程で予期せず有益な反応に出会うことができた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,000,000	0	2,000,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	390,000	3,690,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・化学系薬学

キーワード：有機反応学

1. 研究開始当初の背景

環境汚染や地球温暖化が問題となる昨今、これからの化学産業に求められるものは、グリーンケミストリーの理念に則った低環境負荷、高原子効率の化学反応プロセスであり、この理念に沿って、既存の反応プロセスについても今一度見直し、より良いものへと改善していかなければならない。

2. 研究の目的

我々の生活を支える有用な医薬品や各種化学工業品にはアミド結合を持つものが多数存在し、そのアミド結合を形成する反応は現代の化学産業の中で極めて重要な化学反応のひとつといえる。代表的なアミド結合形成反応としては、カルボン酸を反応性の高い活性エステルにする方法や当量の縮合剤を用いたカルボン酸とアミンの脱水縮合が挙げられる。しかし、これらの方法では活性エステルや縮合剤に由来する大量の酸や副生成物が生じるため、それらの分離や廃棄に多大なコストを要し、ときとして環境汚染をも引き起こす。このため、有害な副生成物を生じない効率的なアミド化反応の早期開発が望まれている。

酵素は数十から数百のアミノ酸から構成されるタンパク質で、生体内での化学反応を促進させる非常に優れた触媒であり、その触媒機構は非常に合理的で効率的なものである。エステラーゼやRNaseといった加水分解酵素の中には、活性中心に二つの金属イオンを持つものがある。その推定触媒機構は、二つの金属イオンがエステルの二つの酸素原子に配位して強力に活性化、続いて求核剤である水分子を捕捉して反応点に近づけ反応を促進するというものである。本研究は、二核金属酵素エステラーゼの活性部位を模倣

した配位子と各種金属イオンを組み合わせることでカルボン酸とアミンの触媒的脱水縮合反応触媒の開発を目指した。本反応は、大量の酸や副生成物を生じる従来法とは異なり、無害な水のみを副生成物とする環境調和型の化学反応である。

3. 研究の方法

申請者は、酵素の活性中心をヒントに二核金属の協働効果と水素結合による基質の活性化をコンセプトにした触媒**1**を設計し、これを用いた触媒的アミド化反応を開発することにした (Fig. 1)。

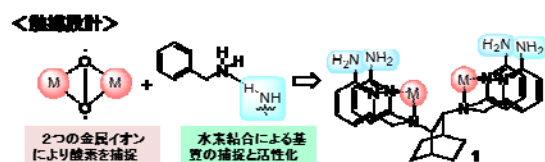
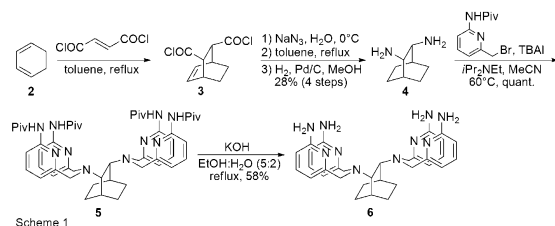


Figure 1

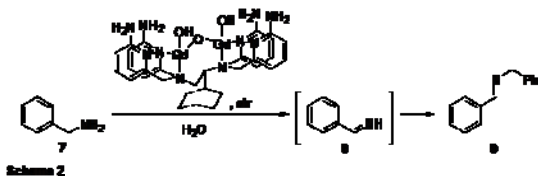
シクロヘキサジエン**2**を出発原料とし、Diels-Alder反応により酸塩化物**3**とした。Curtius転位の後、接触水素還元によりジアミン**4**を得た。続くアルキル化、ピバロイル基の除去によりシクロヘキサジエン**2**から6段階で配位子**6**を合成した (Scheme 1)。



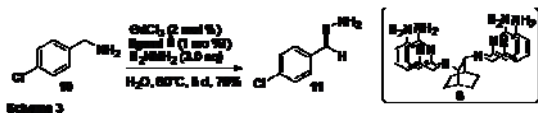
4. 研究成果

合成した配位子**6**と各種金属より調製した錯体を用いて安息香酸とベンジルアミンのアミド化を試みたところ、目的のアミド化は全く進行せず、予想に反してベンジルアミンが酸化された後、イミン**8**と未反応のベンジルアミン**7**が反応したと思われるベンジルイ

ミン**9**が得られた (Scheme 2)。



この酸化反応は、脱気条件では反応が全く進行しないことから酸素を共酸化剤とする酸素酸化反応と考えられる。種々反応条件を検討したところ、錯体の中心金属は一般的な酸化反応に用いられる遷移金属よりも希土類金属、とりわけガドリニウムが最も良い結果を与えること、有機溶媒中では反応は進行せず、水中でのみ反応が進行すること、また pH 9 付近で反応性が最も高まるという知見が得られた。また、触媒はベンジルアミンは酸化するが、脂肪族アミンやベンジルアルコールは全く酸化しないという官能基特異性を持つこと、一般的に反応性の高い2級アミンよりも反応性の低い1級アミンを酸化することもわかった。ベンジルアミンの酸化で得られるイミンが未反応のベンジルアミンと反応してベンジリイミンを形成するために酸化効率が50%を超えないという問題点があったが、ヒドラジン存在下で反応を行うことで生じるイミンをヒドラゾンへと変換することでこの問題を解決することができ、安全で環境にやさしくコストパフォーマンスに優れた酸素酸化反応が開発できた (Scheme 3)。



この酸化反応はガドリニウムという希土類金属を用いた酸素酸化反応である。現在までに希土類金属を用いた酸素酸化反応は知られておらず、希土類金属の新たな反応性を見出した。本酸化反応は水を溶媒とし、

加圧条件や酸素雰囲気下、空気のバブリングなどといった煩雑な操作を必要とせず、開放系で加熱攪拌するだけで大気中の酸素を取り込み基質を酸化するという安全で環境にやさしくコストパフォーマンスに優れた特性を持っている。

本研究は、当初触媒的アミド化反応の開発を目指して始めた研究であったが、研究の過程で予期せず有益な反応に出会うことができた。また、希土類金属の新たな反応性を見出したという意味でも本研究には意義があったと考える。開発した触媒的酸素酸化反応は、ベンジルアミンなどの反応性の高いアミンは酸化するが、反応性の低い脂肪族アミンなどは現時点では酸化しない。今後は酸化力の向上を課題に、触媒**1**の構造最適化、ならびに更なる反応条件の検討 (反応温度、濃度、pHなど) を行い、より効率的な環境調和型酸素酸化反応の開発を目指す予定である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計7件)

- ① Nobuki Kato, Masayoshi Inada, Hiroataka Sato, Satoko Ito, Mitsuru Shoji, Minoru Ueda, Enantio- differential Approach using fluorescence-labeled Phyllanthurinolactone, a leaf-closing Factor of *Phyllanthus urinaria* L., *Tetrahedron Lett.* **2007**, 48, 7702-7705. 査読有
- ② Tomohiko Fujii, Nobuki Kato, Izumi Iwakura, Yoshiyuki Manabe, Minoru Ueda, Synthesis of Staudinger-type Molecular Probe for Catch-and-release Purification of the Binding Protein for Potassium Isolespedezate, a Leaf-closing Substance of Leguminous Plant, *Chem. Lett.* **2008**, 37,

52-53. 査読有

- ③ Kentaro Iso, Masayuki Inoue, Nobuki Kato, Masahiro Hirama, Synthesis of the Bicyclo[7.3.0]dodecadiyne Core of the Maduropeptin Chromophore, *Chem. Asian J.* **2008**, 3, 447-453. 査読有
- ④ Yuko Aoki, Naoki Umezawa, Yuko Asano, Keiichiro Hatano, Yuki Yano, Nobuki Kato, Tsunehiko Higuchi, A Versatile Strategy for the Synthesis of Crown Ether-Bearing Heterocycles: Discovery of Calcium-Selective Fluoroionophore, *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, 15, 7108-7115. 査読有
- ⑤ Shoji Akita, Naoki Umezawa, Nobuki Kato, Tsunehiko Higuchi, Array-based fluorescence assay for serine/threonine kinases using specific chemical reaction, *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, 16, 7788-7794. 査読有
- ⑥ Takehiro Yamane, Kohei Makino, Naoki Umezawa, Nobuki Kato, Tsunehiko Higuchi, Extreme rate acceleration by axial thiolate coordination on the isomerization of endoperoxide catalyzed by iron porphyrin: relevance to prostaglandin H₂ isomerase catalysis, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 6438-6440. 査読有
- ⑦ Mie Kamoto, Naoki Umezawa, Nobuki Kato, Tsunehiko Higuchi, Novel Probes Showing Specific Fluorescence Enhancement on Binding to Hexahistidine Tag, *Chem. Eur. J.* **2008**, 14, 8004-8012. 査読有

[学会発表] (計 39 件)

- ① 松本春香、平林茂樹、加藤信樹、梅澤直樹、樋口恒彦、横山博志、加納詳子、渡邊健太郎、山中雅彦、松本政哲、内海順夫、「分子バーコード」としての合成 DNA

による個別情報付加、平成 19 年度日本薬学会東海支部例会、2007 年 12 月 8 日 (岐阜) ; A-9

- ② 則武幸延、渡部頼忠、南波あずさ、加藤信樹、梅澤直樹、樋口恒彦、反応補助基を導入したマンガンサレン錯体の活性酸素消去活性、第 40 回酸化反応討論会 2007 年 11 月 18 日 (奈良) ; P-35
- ③ 則武幸延、渡部頼忠、南波あずさ、加藤信樹、梅澤直樹、樋口恒彦、分子内に三次元的に固定された反応補助基のマンガンサレンのカタラーゼ様活性とペルオキシダーゼ様活性に及ぼす効果、第 18 回金属の関与する生体関連反応シンポジウム 2008 年 6 月 6 日 (名古屋)
- ④ 野々垣定紀、上田真之介、加藤信樹、梅澤直樹、樋口恒彦、新概念に基づく高い効率を目指した光駆動一方向回転分子の開発、第 54 回日本薬学会東海支部大会、2008 年 7 月 5 日 (名古屋)
- ⑤ 野々垣定紀、上田真之介、加藤信樹、梅澤直樹、樋口恒彦、光駆動回転分子の開発、日本薬学会第 129 年会、2009 年 3 月 26 日 (京都)

他 34 件

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 1 件)

名称 : 光駆動回転分子

発明者 : 樋口恒彦、上田真之介、野々垣定紀
加藤信樹、梅澤直樹

権利者 : 名古屋市立大学学長

種類 : 特開

番号 : 2009-035501

出願年月日 : 2009 年 2 月 19 日

国内外の別 : 国内

[その他]

ホームページ等

<http://www.phar.nagoya-cu.ac.jp/hp/ysk/main/main.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

加藤 信樹 (KATO NOBUKI)

名古屋市立大学・大学院薬学研究科・助教

研究者番号：50400221

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()